

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Karolina Knížková

Transport buněk mezi matkou a plodem: klinické důsledky a následky
Maternal-fetal cellular trafficking: clinical implications and consequences

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 15.5.2017

.....

Karolina Knížková

Poděkování:

Poděkování patří prof. RNDr. Janu Černému, PhD., vedoucímu mé bakalářské práce, za cenné rady, vstřícnost a ochotu podělit se o své rozsáhlé odborné znalosti.

Děkuji také Mgr. Valérii Grobárové, PhD. a Mgr. Janu Pačesovi za obětavou, pro mě velmi významnou pomoc, a také za velmi přátelskou atmosféru při práci.

Abstrakt (CZ)

Mikrochimérismem označujeme výskyt malé populace buněk s odlišnou genetickou informací v rámci jednoho organismu, který vzniká například díky obousměrnému přenosu buněk mezi matkou a plodem během těhotenství. Jedná se o dnes velmi studovaný fenomén, jehož biologická role však není zatím přesně známa. Přítomnost fetálních buněk v těle matky je spojována s pozitivními i negativními dopady na matčino zdraví. Mikrochimérismus hraje roli například při nádorových onemocněních nebo autoimunitních chorobách a je zapojen do navození tolerance k plodu během těhotenství. V klinické praxi může být mikrochimérismus využíván při prenatální diagnostice aneuploidií nebo při predikci komplikací během těhotenství.

Klíčová slova: diferenciaci, fétus, chimérismus, kmenové buňky, mikrochimérismus, regenerace

Abstract (EN)

Microchimerism is the presence of small population of cells with a different genetic information within the organism, which can result from bidirectional transfer of the cells between the mother and fetus during pregnancy. It is very studied phenomenon whose biological role is not clear yet. The presence of fetal cells in mother's body is associated with both positive and negative effects on maternal health. Microchimerism plays a role in cancer or autoimmune disease and it is implicated in development of tolerance mechanisms during pregnancy. Microchimerism could be used in prenatal diagnostics for aneuploidies or in prediction of complications during pregnancy.

Key words: chimerism, differentiation, fetus, microchimerism, regeneration, stem cells

Seznam použitých zkratk

CD	diferenciační antigen (cluster of differentiation)
cffDNA	mimojaderná/volná DNA plodu (cell free fetal DNA)
CNS	centrální nervový systém
EGFP	zesílený zelený fluorescenční protein (enhanced green fluorescent protein)
FCM	mikrochimérické fetální buňky (fetal cell microchimerism)
FISH	fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace (fluorescent <i>in situ</i> hybridization)
GFP	zelený fluorescenční protein (green fluorescent protein)
IL-2	interleukin-2
MFCT	maternálně-fetální přenos buněk (maternal-fetal cellular trafficking)
NGS	nová generace sekvenování (next generation sequencing)
NIMA	nezděděné maternální antigeny (non-inherited maternal antigens)
PAPCs	progenitorové buňky spojené s těhotenstvím (pregnancy-associated progenitor cells)
Q-PCR	kvantitativní polymerázová řetězová reakce (quantitative polymerase chain reaction)
SRY	pohlaví určující oblast chromozomu Y (sex determining region of the Y chromosome)
TGF	transformující růstový faktor (transforming growth factor)
Treg	regulační T lymfocyt (regulatory T cell)

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Způsoby ustanovení mikrochimérismu mezi matkou a plodem.....	9
2.1	Cesty přenosu buněk	10
2.2	Metody pro studium mikrochimérismu.....	11
3	Klinické důsledky a následky mikrochimérismu	13
3.1	Udržování těhotenství	13
3.1.1	Mikrochimérismus a dělení zdrojů mezi matkou a plodem	14
3.1.2	Prenatální diagnostika	15
3.2	Mikrochimérismus a opravy tkání	16
3.2.1	Kůže	18
3.2.2	Srdce.....	19
3.2.3	Játra a ledviny	19
3.2.4	Mozek.....	20
3.3	Mikrochimérismus a nádorová onemocnění	22
3.3.1	Nádory prsu v porovnání s nádory tlustého střeva.....	22
3.3.2	Rakovina štítné žlázy	23
3.3.3	Rakovina plic	24
3.4	Ovlivnění délky života v závislosti na mikrochimérismu	24
3.4.1	Rozdílné dožívání u žen vlivem mikrochimérismu.....	24
3.4.2	Vliv pozdního těhotenství na věk dožití.....	26
4	Závěr	27
5	Seznam použité literatury.....	28

1 Úvod

Fakt, že naše těla jsou společenstvem buněk s identickou genetickou informací byl po dlouhou dobu jedním z dogmat histologie a vývojové biologie. Dnes se situace jeví jako mnohem komplikovanější. Podstatnou část mnohobuněčných organismů totiž můžeme označit jako chiméry, tedy těla vzniklá splynutím několika těl, popř. osídlená buňkami z původně odlišného organismu. Významným okamžikem, kdy ke vzniku chimérismu u organismů s vnitřním zárodečným vývojem dochází, je těhotenství. Během normálního (fyziologického) těhotenství dochází k přechodu buněk pocházejících z těla matky do těla vyvíjejícího se plodu a naopak. Jedná se o běžně se vyskytující situaci, která vede ke vzniku tzv. mikrochimérismu, kdy v tkáních příslušného jedince můžeme nalézt malé množství buněk s odlišnou genetickou informací. Tyto buňky zde mohou zůstat i dlouhou dobu po porodu a mají zde celou řadu důležitých funkcí – například pomáhají udržovat těhotenství, vytváří ochranu před vznikem některých druhů rakovin a mohou se podílet na opravách tkáňového poškození. Na druhou stranu může mít mikrochimérismus i negativní dopad na organismus, například může dojít ke zvýšení rizika vzniku autoimunitních onemocnění. Tematika výzkumu mikrochimérismu je velice komplexní, neboť mechanismů přenosu buněk mezi jednotlivými těly je celá řada – jen v případě lidského modelu se jedná o již zmíněné těhotenství a dále například pohlavní styk, krevní transfúze nebo transplantace.

Cílem této práce je zhodnotit pozitivní i negativní vlivy mikrochimérických fetálních buněk na život a zdraví matky a naznačit možnosti využití tohoto jevu v klinické praxi.

2 Způsoby ustanovení mikrochimérismu mezi matkou a plodem

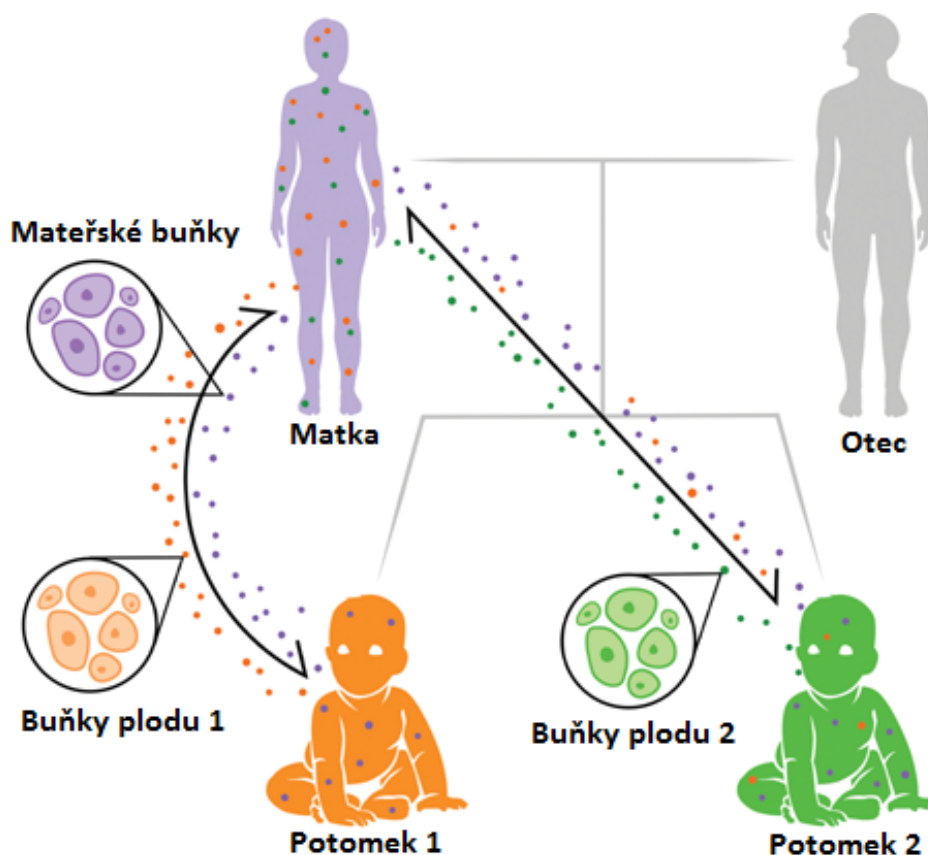
Mikrochimérismus, kterým se budu ve své práci zabývat, vzniká maternálně-fetálním nebo fetálně-maternálním přenosem buněk (MFCT – maternal-fetal cellular trafficking). Jedná se tedy dvousměrný průchod buněk mezi matkou a plodem během těhotenství.¹ Tento přenos je asymetrický a více buněk při něm přechází z plodu do těla matky.² Mikrochimérismus poprvé popsal v roce 1893 George Schmorl, který při svém výzkumu objevil buňky trofoblastu v těle žen, které zemřely na eklampsii.³ *In utero* přenesené buňky pocházející z plodu lze najít v těle matky i desetiletí po porodu⁴, přičemž se objevují jak v krevním řečišti, tak například v kostní dřeni⁵, ledvinách, játrech⁶, srdci⁷ nebo mozku.⁸ Mikrochimérismus vznikající během těhotenství je běžný jev, který začíná během sedmého až šestnáctého gestačního týdne. V průběhu celého těhotenství se přenos buněk zvyšuje a vrcholí při porodu.⁹ Opačný směr přechodu buněk, tedy přechod mateřských buněk do těla plodu, byl popsán až v roce 1963, kdy byly mateřské leukocyty a krevní destičky objeveny v pupečníkové krvi.¹⁰ Mateřské buňky se v krevním řečišti potomků mohou vyskytovat až do dospělosti¹¹ a stejně jako v případě fetálních buněk v těle matky je možné mateřské buňky nalézt usídlené v tkáních plodu.¹²

Mikrochimérismus je mimo jiné důležitý pro udržení těhotenství¹³ a jeho poruchy bývají spojovány s často se opakujícími potraty nebo předčasným porodem.¹⁴ Jde o poměrně nový, málo prozkoumaný jev, jehož biologická role není zatím přesně známa. Celá řada prací ukazuje, že mikrochimérismus hraje roli při ustanovování tolerance vůči plodu¹⁵, opravách poškozených mateřských tkání¹⁶, autoimunitních onemocněních^{17,18} nebo rakovině¹⁹. To vše může být ovlivněno tím, v jaký typ buňky se mikrochimérická populace v těle matky diferencuje. V klinické praxi je možné využít mikrochimérismu například pro neinvazivní prenatalní testování aneuploidií plodu²⁰ nebo pro předcházení komplikacím během těhotenství.¹⁴ Ačkoliv je maternálně-fetální přenos buněk (MFCT) často studován kvůli pozitivním účinkům na zdraví matky, jsou známy i jeho negativní dopady. MFCT je například podezříván z rozvoje některých autoimunitních onemocnění u žen po porodu¹⁷ nebo se vznikem některých druhů rakoviny.²¹

2.1 Cesty přenosu buněk

Existuje několik možných směrů, kterými buňky migrují mezi jedinci během těhotenství. Nejvýznamnější přenos probíhá mezi matkou a plodem. V prvním případě přechází mateřské buňky do těla plodu a jedná se o tzv. maternální mikrochimérismus. V opačné situaci, kdy se buňky plodu přesouvají do těla matky mluvíme o mikrochimérismu fetálním.¹ Takový přenos tedy funguje mezi dvěma následujícími generacemi. Je ale znám i přenos ob generací, kdy si žena zachová v těle buňky své matky a ty předá společně s těmi svými svému potomkovi.²²

Kromě klasického přenosu buněk mezi matkou a plodem, je možný i přenos mezi sourozenci *in utero*. U vícečetných těhotenství běžně dochází k migraci mezi jednotlivými plody. Důležité je si uvědomit, že velké množství původně počatých dvojčat (vícerčat) není jako vícečetné těhotenství udrženo, a nakonec se narodí pouze jedno dítě, které je ale osídleno buňkami nenarozeného sourozence.²³ Celá věc je o to komplikovanější, že sourozenci nemusí být nutně z vícečetných těhotenství, ale z následných těhotenství. Buňky, které z jednoho plodu vstoupí do matky, se zde mohou usadit a během dalšího těhotenství se mohou uvolnit z jejího těla do těla dalšího potomka (viz Obr. 1). Mladší sourozenec tak má v těle kromě mateřských buněk, také buňky staršího sourozence. Tyto mikrochimerické buňky se tedy mohou v jeho těle objevit i pokud nemá dvojče ani staršího sourozence.²² Přenos buněk začíná přibližně v sedmém týdnu těhotenství a pokud po této době dojde k potratu matka už může mít buňky plodu ve svém těle.⁹



Obr. 1 Cesty přenosu buněk mezi jedinci během následných těhotenství

*Buňky embrya se mohou po usídlení v matce přemístit do zárodku z následujícího těhotenství, matka se mezitím stává komplexní buněčnou mozaikou složenou z buněk všech svých dětí, včetně těch nedonošených. Mateřské buňky (znázorněné pomocí fialových teček) putují během těhotenství do těla potomků. Zároveň buňky plodu (oranžové a zelené tečky) se v tomto období přesunují do těla matky, kde mohou být v rámci různých tkání uchovány i desítky let po tom co matka porodí. Kromě těchto dvou směrů zde vidíme také migraci buněk staršího potomka (oranžové tečky) přes matku do těla mladšího sourozence (zelený). *Upraveno podle³⁵*

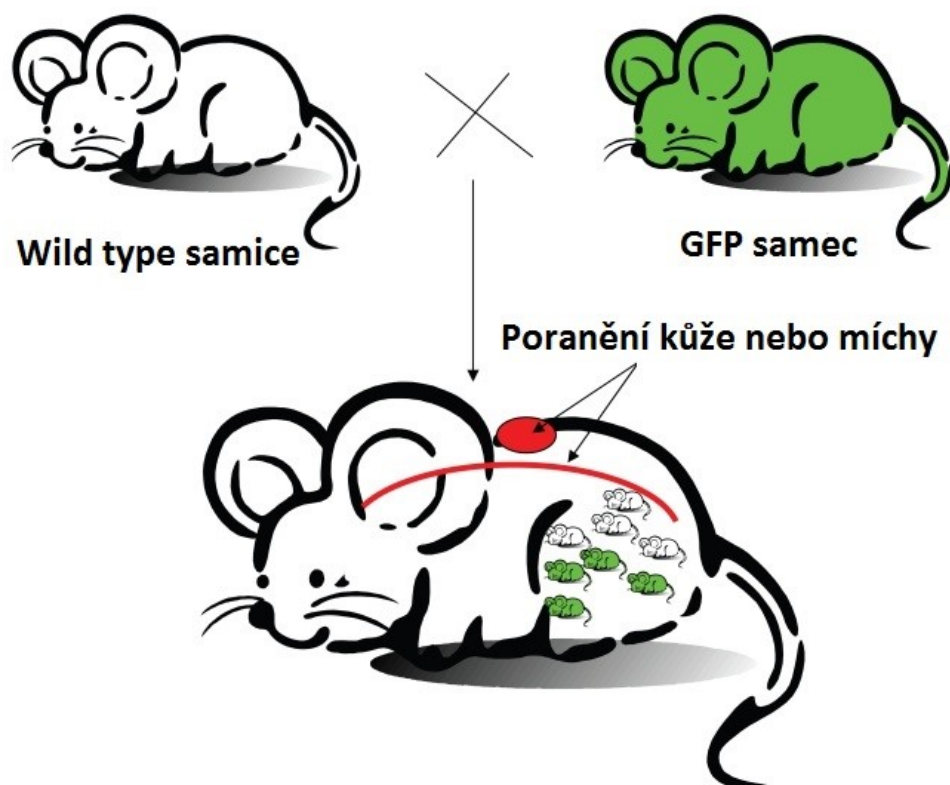
2.2 Metody pro studium mikrochimérismu

Při studiu mikrochimérismu na zvířecích modelech je možné použít genetickou modifikaci vnášející gen pro GFP (green fluorescent protein), nebo jiného fluorescenčního proteinu, do příslušného genomu. Experiment může být uspořádán například tak, že se samice myši nebo krysy (*wild type* – divoký typ) zkříží se samci transgenními pro GFP a následně se sleduje, jak zelené fluorescenční buňky pocházející z vyvíjejícího se plodu osidlují tkáně matky (viz Obr. 2).²⁴

Metodu využívající GFP samozřejmě nelze vzhledem k nutnosti genetické modifikace použít pro zjišťování mikrochimérismu u lidí. Přítomnost fetálních buněk

v mateřském oběhu a tkáních je ale možné zjistit pomocí *in situ* hybridizace. Nejčastěji využívanou metodou *in situ* hybridizace je tzv. metoda FISH (fluorescent *in situ* hybridization). Při té se používají fluorescenčně značené sondy. Například v matkách, které porodily syna, nebo jsou těhotné a syna čekají je možné pomocí *in situ* hybridizace chromozomu Y vizualizovat jádra buněk obsahující mužský pohlavní chromozom. Bohužel tuto techniku není možné neinvazivně využít pro výzkum mikrochimérismu v živých jedincích. Vždy je nezbytná minimálně biopsie pro odběr příslušné tkáně.²⁵

Přes technická omezení při práci na lidském modelu existuje poměrně obsáhlá studie, která se zabývá výskytem fetálních buněk ve tkáních matek, které zemřely v těhotenství, nebo v době krátce (do měsíce) po porodu (viz kapitola 3.4).²⁶



Obr. 2 Křížení samice divokého typu s transgenním samcem.

Metoda využívající GFP (green fluorescent protein), funguje na principu zkřížení samice myši divokého typu (bílá myš) s transgenním GFP heterozygotním samcem (zelená myš). Tak vzniknou potomci, z nichž bude polovina divokého typu (bílé) a polovina ponese gen pro GFP (zelené). Proto, že se v těle divoké matky vyvíjí potomci nesoucí gen pro GFP, můžeme v jejích tkáních nalézt zeleně značené transgenní buňky, které sem přešli během období březosti v rámci mikrochimérických přesunů buněk. Díky takto odlišeným buňkám můžeme pozorovat rozšíření fetálních buněk v rámci těla matky. Pokud byla samice během období březosti poraněna, lze také sledovat schopnost fetálních buněk migrovat do místa poranění. Upraveno podle²⁴

3 Klinické důsledky a následky mikrochimérismu

Tělo matky je v průběhu těhotenství zaplavováno čím dál, tím větším množstvím buněk plodu. Největší četnost buněk v krevním řečišti matky je v době těsně před porodem a po porodu toto množství klesá.⁹ Přítomnost buněk plodu je důležitá během těhotenství nejen kvůli zabránění reakce matky proti plodu¹³, ale může být využita jako důležitý diagnostický nástroj.²⁰

3.1 Udržování těhotenství

Ve správně fungujícím imunitním systému je nezbytné regulovat funkci T lymfocytů tak, aby tolerovaly antigeny těla vlastní a imunitní reakci vytvářely pouze proti antigenům cizím. Pro tento účel vytváří lidský organismus T regulační lymfocyty (Tregs).²⁷ Tyto buňky vyskytující se v těle přirozeně jsou charakteristické povrchovou expresí glykoproteinů CD4 a CD25 (proto se označují jako CD4⁺ a CD25⁺ T-lymfocyty) a intracelulární expresí transkripčního faktoru FoxP3. Treg jsou klíčovou buněčnou imunoregulační populací pro inhibici nevhodné aktivace imunitní reakce proti vlastním antigenům. Pro udržení těhotenství je nezbytné navodit toleranci matky vůči semialogennímu plodu. Je třeba zajistit, aby tělo matky po dobu těhotenství akceptovalo celé spektrum otcovských alloantigenů, a tedy potlačilo agresivní reakci proti plodu. Pokud s použitím myšího modelu porovnáme hladiny regulačních T lymfocytů, větší množství CD4⁺CD25⁺ buněk nalezneme v tkáních březích myši v porovnání s kontrolními. V případě nepřítomnosti Treg lymfocytů dochází ke ztrátě plodu v důsledku imunologického odmítnutí.¹³

Existuje i opačná situace, kdy během těhotenství plod vytváří toleranci vůči mateřským aloantigenům. Plod je (*in utero*) vystaven kontinuální migraci mateřských buněk, což vede ke vzniku maternálního mikrochimérismu. Ten je dlouhodobě (zvláště po narození) možný díky ustanovení tolerance plodu vůči tzv. nezděděným maternálním antigenům (NIMA – non-inherited maternal antigen). K přetrvání této tolerance i po porodu přispívají také mateřské buňky přicházející do těla novorozence perorálně pomocí kojení.²⁸ Mateřské buňky vstupující do plodu ve velkém množství dále migrují do lymfatických orgánů, kde indukují vznik Tregs, přetrvávajících v těle potomka i dlouhou dobu po narození. Díky tomu plod nevytváří reakci proti mateřským aloantigenům. Bylo prokázáno, že při transplantacích mateřských orgánů exprimujících tyto molekuly potomek nevytváří (nebo vytváří sníženou) antigenně specifickou reakci proti transplantátu. Tímto způsobem může dojít ke zvýšení

transplantační úspěšnosti a ke zjednodušení následné post-transplantační imunosupresivní léčby.²⁷ Dále bylo s využitím myšího modelu objeveno, že fetální progenitorové buňky mohou osídlit mateřský brzlík a vyvinout se zde ve zralé CD4⁺ a CD8⁺ lymfocyty. Takto vzniklé buňky neindukují imunitní reakci proti mateřským antigenům, a to díky tomu, že v mateřském brzlíku prošly během vývoje přísnou negativní a pozitivní selekcí.²⁹ Část imunitního systému dítěte tak může být tvořena maternálním buněčným příspěvkem, což může mít i funkční důsledky. Příkladem může být absence předpokládaného fenotypu v diferenciaci T lymfocytů u IL-2 (intereukin-2) knock-out myšího modelu, kdy testovaní jedinci vznikly křížením dvou heterozygotních rodičů.³⁰ Pokud byl fenotyp studován za podmínek, kdy nemohlo dojít ke vzniku maternálního mikrochimérismu v plodu (křížením geneticky modifikovaných homozygotů), byl mnohem výraznější a lépe odpovídal imunologické teorii.³¹

V průběhu těhotenství se kromě fetálních buněk v krevním řečišti matky vyskytuje navíc také cffDNA (cell free fetal DNA). Ta se objevuje od 5. gestačního týdne a její množství se až do porodu postupně zvyšuje. Po vypuzení placenty po porodu začne hladina cffDNA prudce klesat a během několika hodin po porodu je z krve matky úplně odstraněna.³² Zdrojem cffDNA je apoptóza buněk trofoblastu během normálního obratu buněk („cell turnover“). Jde o běžný fyziologický proces, ale v případě, že se během těhotenství vyskytnou komplikace jako například preeklampsie nebo porucha placentace, dojde k nadměrné apoptóze trofoblastu a tím i mohutnějšímu uvolňování cffDNA do krve matky. To může vést k předčasnému porodu nebo potratu. Znalost vztahu hladiny cffDNA v krvi matky k riziku předčasného porodu by bylo možné využít pro vytvoření včasné diagnózy, a poskytnutí potřebné lékařské péče. Mohlo by se tak snížit množství předčasně narozených dětí, u kterých je velké riziko úmrtí nebo vzniku různých postižení. Zatím tato diagnostika není možná, protože neexistuje univerzální marker pro odhalení fetální DNA v krvi matky. S úspěchem se používá pouze gen *SRY* ležící na chromozomu Y, který ale odhalí pouze DNA plodů mužského pohlaví.¹⁴

3.1.1 Mikrochimérismus a dělení zdrojů mezi matkou a plodem

Jedna z teorií vysvětlujících existenci a funkci mikrochimérních buněk plodu uvnitř matky se zaměřuje na fitness plodu a dělení dostupných zdrojů mezi matku a plod. K tomuto účelu slouží placenta, která umožňuje přenos živin mezi matkou a potomkem. Fetální buňky v krevním oběhu a tkáních matky mohou plodu sloužit jako prostředek k optimalizaci

přenosu zdrojů v jeho prospěch a tím zvyšovat jeho fitness.³³ Během implantace invadují fetální buňky děložní sliznici matky a remodelují endometriální tepny tak, aby nebyly schopné se sevřít. Z toho důvodu zde matka nemůže regulovat průtok krve a například snížit obsah živin putující do těla plodu, aniž by snížila přísun živin do vlastních tkání. Z placenty se tak mohou přímo do krve matky dostat například hormony a další regulační molekuly, které dále ovlivňují fyziologii matky ve prospěch plodu. Aby se podařilo udržovat co nejlepší přerozdělení zdrojů používá matka protiopatření pomocí kterých limituje tok zdrojů tak, aby nepřekračoval určité mateřské optimum. V případě, že je tato kooperace mezi oběma jedinci narušena může dojít ke konfliktu. Ten může mít pro oba vážné důsledky. Například pokud je embryo na začátku těhotenství nějakým způsobem poškozeno nebo matka trpí nedostatečným přísunem živin (nebo na ni působí jiný stresový faktor) dojde k potratu plodu dříve, než matka uvolní významné množství zdrojů. Díky tomu může matka investovat zdroje do stávajících nebo budoucích potomků lepší kvality. Konflikt mezi matkou a plodem může také vést k preeklampsii v případě, že se nedostatečně vyživovaný plod snaží zvýšit přísun živin pomocí zvyšování resistance periferní cirkulace matky.³⁴

Mikrochmérismus však nemusí plodu pomáhat zvyšovat fitness pouze během těhotenství. Uvažuje se, že buňky plodu v různých tkáních matky mohou ovlivňovat chování matky i po porodu. Například v prsní tkáni by mikrochimérní buňky mohly podporovat produkci mléka, v tkáních štítné žlázy generování tepla a v mozku ovlivňovat neuroendokrinní systém, což by mohlo vést k udržování rodičovské péče i po porodu. Tato tvrzení nejsou zatím prokázána, ale jsou zajímavou možností pro další výzkum.³⁵

3.1.2 Prenatální diagnostika

Díky tomu, že se buňky plodu vyskytují v krvi matky, je možné je jednoduše odebrat a využít například pro prenatální diagnostiku autozomálních aneuploidií. Možnost získat tyto buňky během odběru krve je velkou výhodou, neboť se tak lze vyhnout invazivnímu vyšetření, které s sebou nese určitá rizika. Podle množství fetální DNA v krvi matky lze určit, zda není plod postižen některou z trisomií nebo monosomií chromozomu X. Je známo množství „fetální frakce“ v plazmě matky v případě euploidního plodu. Pokud je toto množství vyšší je zvýšená pravděpodobnost trisomie 21. chromozomu, pokud je naopak nižší než u euploidního plodu, jedná se s velkou pravděpodobností o trisomii 18. nebo 13. chromozomu či monosomii chromozomu X.²⁰

Další možností je genetická analýza využívající techniky NGS (next generation sequencing). Jedná se o poměrně novou, přelomovou technologii v oblasti genetického

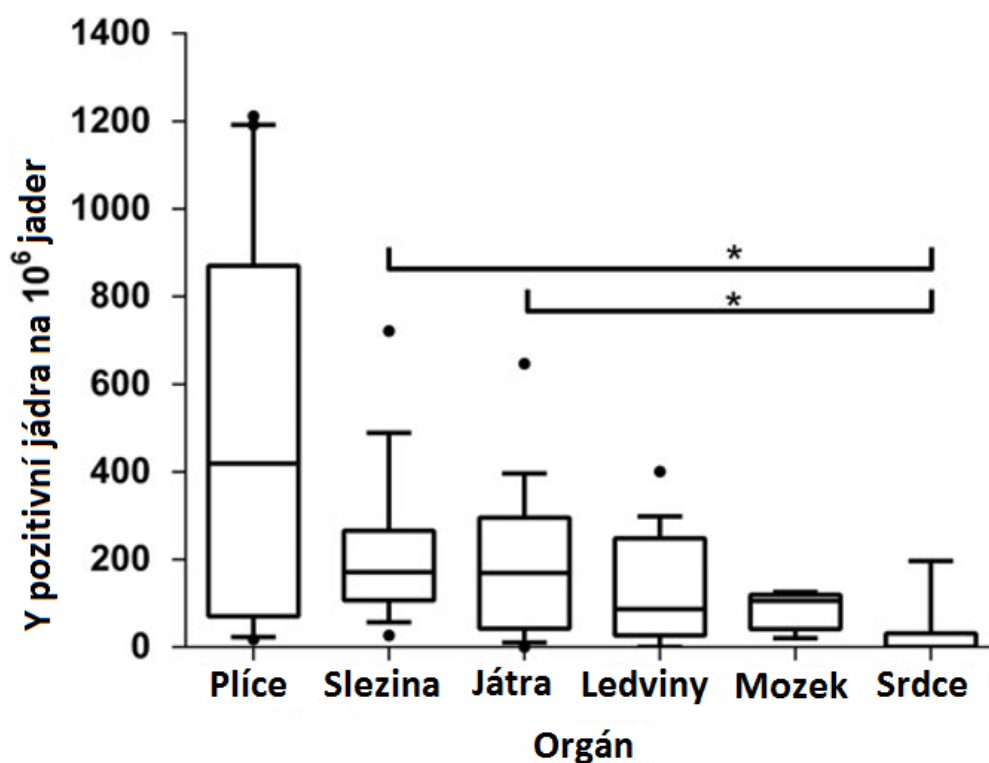
výzkumu, díky které je sekvenování rychlejší a informativnější než v nedávné minulosti. Navíc tato metoda nabízí do budoucna nové možnosti v klinické praxi, jako je například dokonalejší odhalování genomových mutací bez nutnosti dodatečných testů.³⁶

3.2 Mikrochimérismus a opravy tkání

V těle matky během života dochází k různým poškozením tkání. K jejich opravě je zapotřebí různých typů kmenových buněk, které migrují na místo poškození (popřípadě se vyskytují v blízké nise) a díky schopnosti proliferace a diferenciaci do různých buněčných typů poškozené místo opraví. S věkem bohužel mizí místa (niky), ve kterých jsou kmenové buňky uchovávané a vyčerpávají se i samotné populace kmenových buněk, tím pádem se snižuje i schopnost hojení.³⁷ Řada prací ukazuje, že fetální buňky mohou mít vlastnosti kmenových buněk, což znamená, že mohou dát vzniknout různým populacím buněk a také jsou schopné vyčerpané niky doplňovat.³⁸ Tento fenomén se může pozitivně podílet na neutralizaci negativních vlivů stárnutí působících na matku, což může být pozitivní nejen pro matku, ale být výhodné i pro plod. Se zvyšujícím se fitness matky se zvyšuje i fitness plodu, neboť matka je schopna uvolnit více zdrojů v jeho prospěch.³⁷

Díky rozsáhlé nizozemské studii zkoumající vzorky tkání žen, jež zemřely během těhotenství nebo do měsíce po porodu, se pomocí hybridizace chromozomu Y fluorescenční sondou zjistilo, kde se fetální buňky v jejich tělech nejčastěji usídlovaly, a to včetně kvantitativního stanovení. Důležitým zjištěním je to, že mužské buňky byly nalezeny ve všech zkoumaných orgánech a dále fakt, že větší množství fetálních buněk bylo pozorováno v ženách, které zemřely během těhotenství než v matekách, které zemřely až nějaký čas po porodu. Nejvíce buněk plodu na mm² obsahovala slezina. Pokud však byl počet chromozom Y pozitivních jader vztahován na milion jader, byla největší hustota buněk obsahujících mužský pohlavní chromozom jednoznačně v plicích, zřejmě kvůli velkému objemu krve, které je součástí plicní tkáně. Na Obr. 3 můžeme vidět míru osídlení jednotlivých orgánů mužskými fetálními buňkami. Mikrochimerní buňky se v jednotlivých orgánech diferencovaly do různých buněčných typů. V plicích se tyto buňky začleňovaly do stěn bronchiol a cév, ve slezině tvořily část populace hematopoetických buněk, zatímco v játrech se objevovaly v podobě hepatocytů v okolí cév. V ledvinách byly fetální buňky pozorovány v kanálcích (tubulech) a glomerulech. Překvapivě byly nalezeny mikrochimerní buňky obsahující chromozom Y také v mozkové kůře matek jako gliové buňky a nejspíše i neurony.

Nejméně se mikrochimerní buňky vyskytovaly v srdci, kde vykazovaly fenotyp kardiomyocytů.²⁶ Ukazuje se, že největší podíl těchto buněk je lokalizován v plicích, přičemž se jedná o 10krát až 100krát vyšší frekvenci mikrochimerických buněk než v ostatních orgánech. Toto navýšení je nejspíše způsobeno tím, že plícemi opakovaně proudí obrovské množství krve (veškerá krev) velice hustou sítí kapilár. Plíce tedy obsahují velkou kontaktní plochu pro přechod mikrochimerních buněk přes cévní endotel do plicní tkáně. Po přechodu placentou je krev přicházející z plodu odkysličená a proudí do plic matky. Zde se okysličí a buňky plodu přinesené krví se zde mohou jako v prvním mateřském orgánu zachytit. Další mateřské orgány, kde se za fyziologických podmínek objevují fetální buňky jsou například slezina, játra, nejméně osídlené jsou pak ledviny.²⁶



Obr. 3 Míra osídlení mateřských tkání buňkami synů.

Počet jader pozitivních na přítomnost chromozomu Y v jednotlivých mateřských orgánech (vztaheno na hustotu buněk). Horizontální čáry (uprostřed obdélníků) naznačují střední hodnotu, jednotlivé obdélníky reprezentují 25. až 75. percentil. Horizontální linky nad a pod obdélníky prezentují 90. a 10. percentil. Tečky představují mimořádné hodnoty. Jednoznačně nejvyšší hustotu chromozom Y pozitivních jader obsahovaly plíce, naopak nejméně pozitivních jader bylo nalezeno v srdci. (Plíce v porovnání s jakýmkoli orgánem: $P < 0,001$) *Hodnoty $P < 0,05$ jsou považovány za významné. Upraveno podle²⁶

Pro zhodnocení efektu mikrochimérismu při opravách tkáňových poškození jsem si zvolila několik různých orgánů, u kterých byl tento proces dokumentován.

3.2.1 Kůže

Tento orgán má pro člověka velký význam, neboť funguje jako bariéra a chrání nás před vlivy vnějšího prostředí. Pokud dojde k jejímu poranění dochází za fyziologických podmínek u všech savců k okamžitému procesu hojení. Ten zahrnuje vznik zánětu, tvorbu a remodelaci tkáně a u větších ran končí vznikem jizvy. Jizva je tvořena především kolagenem, je pevná, ale ztrácí pružnost, kterou měla kůže před zraněním. V období embryonálního vývoje však probíhá proces hojení bez tvorby jizvy a zhojená tkáň má vlastnosti zdravé, nepoškozené tkáně.^{16,39}

Je možné, aby se embryonální buňky v těle matky podílely na procesu hojení kůže?

Lidský model

Jako modelový příklad fungování oprav tkání za přispění mikrochimérismu u člověka, by mohl sloužit výzkum provedený u matek po císařském řezu. Jedné skupině žen byl odebrán vzorek tkáně z již zahojené jizvy, druhé skupině se pro porovnání odebral vzorek tkáně během porodu císařským řezem, kde ještě nezačal proces hojení a třetí skupině se pro kontrolu odebral vzorek nepoškozené tkáně. V získaných vzorcích bylo zjišťováno rozšíření a množství fetálních buněk pomocí výše zmíněné metody FISH (viz kapitola 2.2). V nepoškozených tkáních bylo nalezeno nejméně fetálních buněk, více se jich vyskytovalo ve vzorcích získaných během porodu a nejvíc fetálních buněk obsahovaly vzorky ze zhojených jizev. Ženy, které navíc v minulosti prodělaly potrat, měly úplně nejvyšší frekvence nalezených mikrochimérních buněk. Tyto výsledky ukazují na možnost, že fetální buňky v kůži aktivně migrují do míst poranění. Poté co byly ve vzorcích fetální buňky objeveny, byl navíc ještě pomocí imunohistochemie (detekující typické kožní molekulární znaky) určován fenotyp nalezených buněk. K tomuto účelu byly použity protilátky proti keratinu, kolagenu, fibronektinu, TGFβ1 (transforming growth faktor β1) a TGFβ3. Tímto způsobem bylo zjištěno, že fetální buňky ve zhojených jizvách produkují keratin, stejně jako okolo se nacházející keratinocyty matky. Dále bylo zjištěno, že mikrochimérní buňky jsou schopné exprimovat i ostatní kožní markery. Ze získaných informací lze usuzovat, že fetální buňky aktivně vyhledávají místa poranění a podílí se na opravě poškozené tkáně.¹⁶

3.2.2 Srdce

Myší model

Další orgán, u kterého byl překvapivě (vzhledem k obecně nízké regenerativní schopnosti) zjištěn pozitivní vliv mikrochimerických buněk při hojení, je srdce. Výzkum provedený s pomocí myších GFP modelů, u kterých byl během březosti uměle vyvolán infarkt myokardu, prokázal schopnost přeměny fetálních buněk na kardiomyocyty, hladké svalové buňky a buňky endoteliální. Infarkt byl u myši navozen ve 12 gestačním dnu. Po jednom a dvou týdnech od infarktu byly myši usmrceny a jejich srdce analyzována. Pro porovnání byla použita srdce zdravých kontrol, u kterých infarkt během březosti navozen nebyl. V srdcích odebraných jeden týden po infarktu bylo nalezeno 120krát více GFP značených buněk než u kontrolních jedinců. Po dvou týdnech od infarktu byl obsah buněk už jen 12krát více než u kontrol. Fetální buňky byly nalezeny v komorách srdce v místě infarktu a v přilehlých zónách. Naproti tomu v nepoškozených místech se fetální buňky téměř nevyskytovaly, z čehož vyplývá, že se přednostně usídlují v místě poškození. Mikrochimerní buňky byly navíc ze srdcí izolovány a pěstovány *in vitro*. Za těchto podmínek vykazovaly obdobné chování jako *in vivo in situ*, a navíc byly schopné se shlukovat a vytvářet útvary připomínající krevní kapiláry. V tomto kontextu je zajímavé pozorování, že kardiomyopatie prodělané během těhotenství mají nejvyšší míru zotavení.⁷

3.2.3 Játra a ledviny

Lidský model

Výzkum zaměřený na jaterní tkáň pracoval se vzorky získanými nejen z dospělých žen, ale také dětí a plodů ženského pohlaví, kde nemůže běžný feto-maternální přenos probíhat. V těchto případech pocházejí mužské buňky s nejvyšší pravděpodobností od předchozího potomka mužského pohlaví, jehož buňky přetrvaly v mateřském oběhu až do následujícího těhotenství nebo ze sourozence mužského pohlaví abortovaného včasném stádiu. Fetální buňky mužského původu byly objeveny ve vzorcích jater plodů, dětí i dospělých ženského pohlaví. Studie potvrdila, že se jedná o častou situaci u dospělých žen. Největší četnost mikrochimérismu byla zjištěna u těch, které byly těhotné nebo po porodu a měly alespoň jednoho potomka mužského pohlaví. Většina nalezených buněk však nebyly hepatocyty, ty se objevovaly pouze během těhotenství, nebo krátce po porodu.²²

Kryší model

S využitím kryšího modelu byl studován vztah mikrochimérismu a schopnosti opravy poškození tkání jater a ledvin. Samice divokého typu byly zkříženy s EGFP transgenními samci a poté co porodily, byly rozděleny do klecí vždy po jednom jedinci. Pomocí podávání vody obsahující 5 % ethanol a injikováním 60mg/kg/den gentamicinu, bylo u krys uměle vyvoláno poškození ledvin, respektive chronické poškození jater. Poté byly samice usmrceny a jejich orgány analyzovány. EGFP pozitivní buňky byly nalezeny v periferní krvi, ale také v kostní dřeni, kde se usídlovaly i přes to, že kostní dřev poškozena nebyla. Mikrochimerní buňky zde pravděpodobně doplňují populaci kmenových buněk, jejichž množství se se zvyšujícím se věkem snižuje. EGFP pozitivní buňky byly také nalezeny rozptýlené v poškozených játrech. Zde byly charakterizovány jako hepatocyty a to díky přítomnosti albuminu, který slouží jako hepatocytární diferenciační marker. V ledvinách se značené buňky vyskytovaly také, a to ve formě tubulárních (epiteliálních) buněk. Získané výsledky ukazují, že fetální buňky se aktivně podílejí na opravách poškozených jater i ledvin matky.⁴⁰

3.2.4 Mozek

Lidský model

Embryonální DNA stejně jako mikrochimerní buňky jsou schopné překračovat tzv. hematoencefalickou bariéru, díky čemuž se mohou usídlit v mateřském mozku a podílet se zde na různých procesech včetně opravování tkáňového poškození.^{8,41} S využitím lidských autopsií centrálního nervového systému (CNS) bylo zjištěno, že mužské fetální buňky se v mozku matek vyskytovaly poměrně často a byly rozmístěny v mnoha jeho částech. Některé studie testovaly hypotézu, zda přítomnost těchto buněk může mít vliv na rozvoj Alzheimerovy choroby, a proto srovnávaly vzorky získané z mozků kontrolních žen prokazatelně trpících za života Alzheimerovou chorobou a žen, které během života neměly žádné neurologické onemocnění. Vzorky mozků žen trpících Alzheimerovou chorobou obsahovaly méně fetálních buněk, než vzorky neurologicky zdravých žen. Pozoruhodné navíc bylo to, že v oblastech mozku, nejvíce napadených neurodegenerací byly koncentrace fetálních buněk nejnižší. Naopak u žen, které měly vysoký stupeň mikrochimérismu byla až o 60 % nižší pravděpodobnost vzniku této nemoci. Tyto výzkumy ukazují, že přítomnost mužských fetálních buněk (a obecně mikrochimerních buněk) v mozku matky má pozitivní efekt a snižuje riziko vzniku některých neurologických onemocnění.⁸

Myší model

Na myším modelu bylo prokázáno, že progenitorové buňky získané během těhotenství (PAPCs – pregnancy associated progenitor cells) jsou schopné migrovat do různých oblastí mateřského mozku a setrvávat zde i 7 měsíců po porodu. Pokud byla u myši uměle vyvolána Parkinsonova choroba četnost a distribuce PAPCs se změnila. Četnost PAPCs v místech poškozených chorobou se zpočátku zvyšovala. To ukazuje, že progenitorové buňky jsou lákány do míst poranění, což odpovídá i zjištěním z jiných studií⁴¹. S postupem nemoci však progenitorových buněk v mozku ubývalo, zřejmě kvůli tomu, že nemoc v mozku vytváří prostředí nevhodné pro přežívání těchto buněk. Kromě buněk exprimujících markery typické pro neurální kmenové buňky a nezralé neurony byly objeveny i PAPCs vykazující fenotyp zralých neuronů, což ukazuje, že tyto buňky jsou schopné diferencovat podobně jako neurony během neurogeneze u dospělých. Díky tomu by PAPCs v budoucnu mohly být využívány pro buněčné terapie při neurodegenerativních onemocněních⁴²

Další studie zaměřená na rozšíření fetálních buněk v myším mozku se zabývala tím, jak je jejich výskyt ovlivněn při navození poškození. U jedné skupiny mladých myších samic, bylo uměle vyvoláno mozkové poškození, druhá skupina sloužila jako kontrola. Obě tyto skupiny byly divokého typu a následně byly zkříženy s transgenními GFP samci. Poté co myši porodily byl studován výskyt značených „zelených“ GFP pozitivních buněk v jejich mozcích a vzorcích odebrané krve. Mikrochimérní buňky byly nalezeny jak ve zdravých matkách, tak v těch, které byly postižené mozkovým poškozením. Ve vzorcích mozku odebraných 4 týdny po porodu bylo více „zelených“ buněk než ve vzorcích odebraných v den porodu. Tato skutečnost naznačuje, že mikrochimerické buňky by měly být schopné nejen přejít do těla matky a překročit hematoencefalickou bariéru, ale i se zde namnožit. V mozcích zdravých myši se nejvíce fetálních buněk vyskytovalo v místě čichového kyje (*bulbus olfactorius*). Naproti tomu v postižených samicích tyto buňky přednostně vstupovaly do míst poškození. GFP⁺ buňky byly nalezeny ve shlucích, což by mohlo být způsobeno buď tím, že do místa vcestuje jedna buňka, která se zde dělí a vzniká zde klonální kolonie, nebo do mozku tyto buňky proniknou individuálně na více místech a do jednoho shluku jsou lákány pomocí signálních molekul indukujících tkáňové poškození. Velice překvapivým a zásadním zjištěním je to, že fetální mikrochimerické buňky usídlené v mozku exprimovaly markery typické pro různé buněčné typy CNS včetně neurálních buněk, ale i různých typů glií.⁴¹

3.3 Mikrochimérismus a nádorová onemocnění

Fetální mikrochimérismus hraje roli v různých typech onemocnění, a ne vždy zde má pozitivní dopad na matčino zdraví.²¹ Například u některých autoimunitních onemocnění je mikrochimérismus spojován se zvýšeným rizikem rozvoje nemoci¹⁷, naopak u rakoviny může v některých případech působit i jako faktor snižující podobné riziko.¹⁹

3.3.1 Nádory prsu v porovnání s nádory tlustého střeva

Rakovina prsu je velice rozšířený typ rakoviny u žen. Ženy, které byly těhotné pak mohou mít snížené riziko vzniku tohoto typu nádorového onemocnění. FCM (fetal cell microchimerism) dosahuje vyšších frekvencí v krvi zdravých žen, naopak u pacientek trpících rakovinou prsu jsou mikrochimerické buňky v krvi i postižených tkáních méně frekventované. Těhotenství zdá se snižuje riziko vzniku rakoviny prsu díky tomu, že fetální buňky imunitního fenotypu mohou ve zdravých ženách rozeznávat mateřské rakovinné antigeny a poskytovat imunitní dohled podobně, jako alogenní krvetvorné kmenové buňky po transplantaci (kostní dřeň).⁴³

Dánská studie zkoumající ženy mezi 50-64 lety potvrdila, že ženy, u kterých je mikrochimérismus detekován mají až o 70 % nižší riziko vzniku rakoviny prsu než ženy, které v těle mikrochimerické buňky nemají.

Kromě toho tato studie odhalila, že mikrochimérismus objevující se v periferní krvi nemusí mít pouze pozitivní efekt, ale může naopak riziko vzniku některých typů nádorů zvyšovat. Tak je tomu například u rakoviny tlustého střeva. Ženy se zvýšenou hladinou mikrochimérismu v krvi mají čtyřnásobně vyšší pravděpodobnost rozvoje rakoviny tlustého střeva. Zatím není možné určit, jestli mikrochimérismus ovlivňuje rozvoj různých druhů rakoviny přímo, nebo jestli je spojen s jiným faktorem, který je za to zodpovědný. Pokud by se ale prokázal vztah hladiny mikrochimérismu s přímým rizikem vzniku a rozvoje rakoviny, bylo by tuto souvislost možné využít pro zlepšení prevence vzniku konkrétního typu pozitivně korelujícího nádorového onemocnění. Ženy se zjištěnou vysokou frekvencí fetálních buněk v krvi, tedy i zvýšeným rizikem vzniku rakoviny tlustého střeva by mohly docházet na pravidelné kontroly a tím zvýšit šanci na včasné podchycení nemoci. Naopak ženy negativní na přítomnost fetálních buněk by mohly častěji podstupovat mamografické vyšetření.²¹

Ukazuje se ale, že vztah mikrochimérismu a rakoviny prsu zřejmě není tak úplně jednoznačný. Jiná studie zkoumající rakovinu prsu totiž popsala častější výskyt fetálních buněk v maligních nádorech, spíše než v benigních, kde se mikrochimerní buňky téměř neobjevovaly. V případě zhoubných nádorů se navíc tyto buňky vyskytovaly spíše přímo v oblasti nádoru než v okolní zdravé tkáni. Dále mikrochimerní buňky exprimovaly cytokeratin a vimentin, což jsou markery specifické jak pro epitel, tak pro nádorové stroma. Tyto buňky dále nikdy neexprimovaly CD45 (marker typický pro leukocyty), což naznačuje, že přijaly fenotyp nádorových buněk, na místo vytváření imunitní odpovědi. Mikrochimerní buňky se na rozdíl od jiných situací nenacházely v klastrech, takže do nádoru migrovaly nejspíš jednotlivě a zde se již nedělily.⁴⁴

Protichůdné výsledky různých studií zaměřených na sledování efektu mikrochimérismu na nádorové onemocnění prsu, mohly být způsobeny odlišnými metodami použitými při výzkumu. V prvním případě, kdy studie naznačovaly pozitivní účinek mikrochimérismu, byla použita pouze metoda Q-PCR (quantitative polymerase chain reaction), která je schopná odhalit a kvantifikovat cizorodou (fetální) DNA pomocí kvantifikace sledovaného úseku DNA (v tomto případě se jednalo o gen *DYS14* ležící na chromozomu Y).^{21,43} V druhém případě byla použita metoda FISH, která kromě identifikace fetálních buněk v mateřském organismu jako takových, nabízí také možnost jejich další charakterizace. Tímto způsobem je možné například pomocí kolokalizace s markerovými molekulami určit konkrétní buněčný typ nebo histologický kontext, a tak se přiblížit pochopení role mikrochimerních buněk v osídlené tkáni.⁴⁴

3.3.2 Rakovina štítné žlázy

Stejně jako v případě rakoviny prsu má přítomnost plodových buněk nejspíše pozitivní dopad i na matky postižené rakovinou štítné žlázy. Pacientky s rakovinou štítné žlázy mají ve srovnání se zdravými matkami nižší hladinu mikrochimerických buněk v krvi. U některých patientek nebyly fetální buňky v krvi vůbec detekovány a objevovaly se pouze v nádorech. To ukazuje na možnost, že se fetální buňky po přechodu do matky stahují do míst, kde jsou následně uchovávány (například do lymfatické tkáně a kostní dřeně) a odtud jsou v případě potřeby mobilizovány a putují přímo do postižených oblastí, kde se diferencují a pomáhají opravovat poškození.¹⁹

3.3.3 Rakovina plic

Protektivní roli má mikrochimérismus i při onemocnění rakovinou plic. Fetální buňky se zde vyskytují i v případě, že matka onemocní až několik let po porodu. Mikrochimérické buňky zde tvoří shluky a častěji se vyskytují nádorech než v okolní nenapadené tkáni. Bylo zjištěno, že jejich frekvence je až 2krát vyšší v postižených plicích než ve zdravých kostech téhož jedince. Vypadá to, že plodové buňky přešly do těla matky během těhotenství a zde se uvnitř mikroprostředí kostní dřeně uchovaly. Po propuknutí nemoci začaly migrovat do místa nádoru a tak zde došlo k jejich nahromadění.⁴⁵

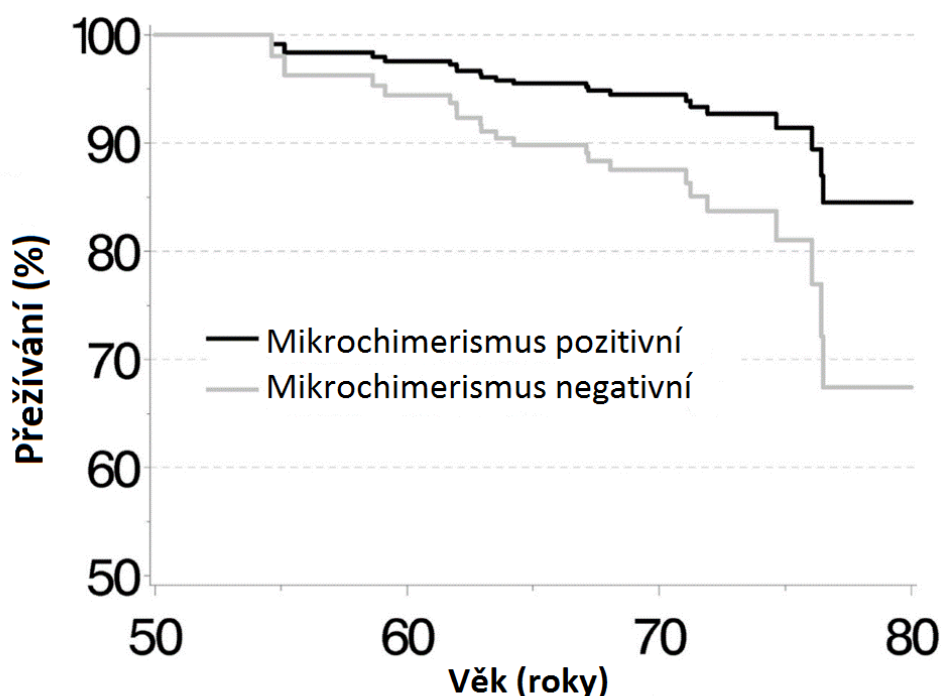
3.4 Ovlivnění délky života v závislosti na mikrochimérismu

Ženy se obecně dožívají vyššího věku než muži. Historicky byly popsány různé důvody proč ženy žijí déle než muži, recentní výzkumy ale ukazují, že je možné, že na tuto zajímavou skutečnost má určitý vliv i mikrochimérismus. Je zřejmé, že muži nemohou na rozdíl od žen získat fetální buňky plodu během těhotenství (viz Obr. 1). Je možné, že právě díky tomu se ženy dožívají vyššího věku?

3.4.1 Rozdílné dožívání u žen vlivem mikrochimérismu

Mikrochimérismus má pozitivní vliv na zdraví matky, a to z řady různých důvodů. Jak jsem již popsala výše, mikrochimérismus může například snižovat riziko vzniku některých druhů nádorů, podílet se na opravách tkání nebo na doplňování kmenových buněk do vyčerpaných nik. Díky těmto mechanismům může mikrochimérismus celkově zvyšovat pravděpodobnost dožití se vyššího věku u těch žen, které porodily potomka (nebo byly těhotné alespoň do stádia, kdy dochází k feto-maternálnímu mikrochimérismu) oproti ženám bezdětným. Studie provedená na dánské populaci, která zahrnovala 272 žen, potvrdila vztah mezi výskytem mužských fetálních buněk a sníženou mortalitou. Byla zde studována přítomnost mužského Y chromozomu, protože v těle ženy se jedná o nejsnadněji identifikovatelnou cizorodou strukturu jednoznačně související s mikrochimérismem. Výše zmíněná studie jasně ukázala, že zvýšená míra mikrochimérismu je spojena se značně sníženou úmrtností bez ohledu na příčinu úmrtí. Jako důležitý faktor ovlivňující úmrtnost byl zařazen parametr odlišující ženy nekuřačky a ženy, které kouří nebo kouřily v minulosti. Kouření může způsobovat řadu onemocnění vedoucích ke smrti, avšak i přes to bylo stále lepší přežívání u žen osídlených

mužskými fetálními buňkami, bez ohledu na to, jestli byl použit model zahrnující kouření nebo ne.



Obr. 4 Vliv mikrochimérismu na délku života žen.

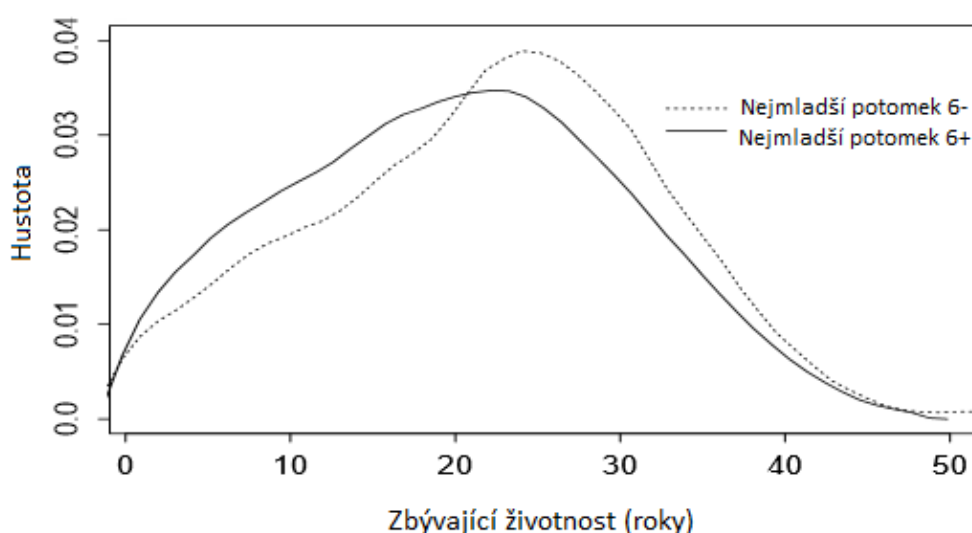
Graf znázorňuje, jak přítomnost mikrochimérismu ovlivňuje věk dožívání u žen. Porovnává ženy, u nichž byl mikrochimérismus prokázán s ženami mikrochimérismus negativními. Z grafu vyplývá, že ženy pozitivní se dožívají obecně vyššího věku než ženy mikrochimérismus negativní. Největší rozdíl však nastává kolem osmdesátého roku života, kdy je rozdíl v dožívání dokonce až 18 %. Upraveno podle⁴⁶

Jak je vidět z grafu (viz Obr. 4), ženy, u kterých byla prokázána přítomnost mužských fetálních buněk se dožívají vysokého věku častěji než ženy, které tyto buňky v těle nemají. Navíc se zvyšujícím se věkem se rozdíl v úmrtnosti u pozitivních oproti negativním ženám pro fetální mikrochimérismus stále více prohlubuje. Kolem osmdesátého roku života je rozdíl největší. Je možné, že by tento trend pokračovat stejně i dále, ale pro vyšší věk nejsou k dispozici statistická data.

Výsledky, ke kterým studie dospěla, neodpovídají reálným údajům o průměrném věku dožívání žen v Dánsku, neboť musíme brát v potaz fakt, že ženy vybrané do výzkumu byly na počátku prokazatelně zdravé a bez rakoviny, což neodpovídá situaci v běžné populaci.⁴⁶

3.4.2 Vliv pozdního těhotenství na věk dožití

Délku života žen může ovlivnit také počet porozených dětí. Zvýšená plodnost je spojena se zvyšující se šancí na dožití velmi vysokého věku. Porod v pokročilém věku má pozitivní vliv na prodloužení života matky. Při vysoké plodnosti je pravděpodobné, že žena bude v období menopauzy vychovávat ještě malé dítě, a to je zřejmě faktor podporující dlouhověkost. Aby měly malé děti starých matek co nejvyšší šanci na přežití je výhodné, aby se o ně mohla matka co nejdéle a intenzivně starat. Existence takového dítěte by tedy měla prodlužovat život matky. U žen nad 50 let se statisticky zvyšuje délka života s klesajícím věkem nejmladšího potomka (viz Obr. 5). Zároveň je statisticky prokázáno, že ženy, kterým se narodilo více než 8 dětí se dožily vyššího věku než ženy s méně potomky nebo ženy, které děti nemají.⁴⁷



Obr. 5 Vztah mezi věkem nejmladšího potomka a délkou života žen. Neparametrický odhad hustoty pravděpodobnosti zbývající životnosti po 50 letech u žen s různě starými potomky. Upraveno podle⁴⁷

Tento výsledek může být interpretován tak, že při těhotenství ve vysokém věku fetální buňky doplní vyčerpané niky kmenových buněk a umožní kontinuální buněčnou obnovu, která může být zodpovědná za „omlazení“ mateřského organismu. Navíc „stará“ matka bude obsahovat větší množství tkáňových poškození, která mohou být opravena najednou, čímž může dojít k podstatné tkáňové regeneraci.

4 Závěr

Mikrochimérismus vznikající během těhotenství je velkým fenoménem současného biomedicínského výzkumu. I když ještě neznáme všechny souvislosti, víme, že má dlouhodobé účinky na zdraví matky i jejích potomků. Migrace buněk mezi těly s odlišnou genetickou informací je důležitá pro udržování těhotenství, rozvoj imunitního systému plodu, dále hraje roli při vzniku autoimunitních chorob i nádorových onemocnění a zapojuje se do oprav poškozených tkání. Vzhledem k tomu, že výskyt mikrochimérismu není výjimečný a jedná o běžný děj doprovázející velké množství fyziologicky probíhajících těhotenství (možná všechna), má smysl tento jev dále podrobněji studovat a optimalizovat modely a technologie pro jeho výzkum. Znalost mikrochimérismu nabízí celou řadu možností do budoucna. Například pokud detailně pochopíme mechanismy imunologické tolerance, která vzniká během těhotenství, můžeme tyto znalosti aplikovat při předcházení imunitní reakci proti štěpu při reálných transplantacích. Dále je možné vylepšovat neinvazivní prenatalní diagnostiku a předcházet možným komplikacím během těhotenství. Samostatnou kapitolou je možné využití mikrochimérních buněk s velkým diferenciačním potenciálem pro regenerativní medicínu, včetně prodloužení kvalitního lidského života.

5 Seznam použité literatury

1. Jeanty, C., Derderian, S. C. & Mackenzie, T. C. Maternal-fetal cellular trafficking: clinical implications and consequences. *Curr. Opin. Pediatr.* **26**, 377–82 (2014).
2. Lo, Y. M. D., Lau, T. K., Chan, L. Y. S., Leung, T. N. & Chang, A. M. Z. Quantitative Analysis of the Bidirectional Fetomaternal Transfer of Nucleated Cells and Plasma DNA. *Clin. Chem.* **46**, (2000).
3. Lapaire, O. *et al.* Georg Schmorl on trophoblasts in the maternal circulation. *Placenta* **28**, 1–5 (2007).
4. Bianchi, D. W., Zickwolf, G. K., Weil, G. J., Sylvester, S. & DeMaria, M. A. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **93**, 705–8 (1996).
5. O'Donoghue, K. *et al.* Microchimerism in female bone marrow and bone decades after fetal mesenchymal stem-cell trafficking in pregnancy. *Lancet (London, England)* **364**, 179–82 (2003).
6. Koopmans, M. *et al.* Chimerism in Kidneys, Livers and Hearts of Normal Women: Implications for Transplantation Studies. *Am. J. Transplant.* **5**, 1495–1502 (2005).
7. Kara, R. J. *et al.* Fetal cells traffic to injured maternal myocardium and undergo cardiac differentiation. *Circ. Res.* **110**, 82–93 (2012).
8. Chan, W. F. N. *et al.* Male microchimerism in the human female brain. *PLoS One* **7**, e45592 (2012).
9. Ariga, H. *et al.* Kinetics of fetal cellular and cell-free DNA in the maternal circulation during and after pregnancy: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Transfusion* **41**, 1524–1530 (2001).
10. DESAI, R. G., CREGER, W. P., Gausepohl, N. & Loomis, M. Maternofetal Passage of Leukocytes and Platelets in Man. *Blood* **21**, (1963).
11. Maloney, S. *et al.* Microchimerism of maternal origin persists into adult life. *J. Clin. Invest.* **104**, 41–7 (1999).
12. Srivatsa, B., Srivatsa, S., Johnson, K. L. & Bianchi, D. W. Maternal cell microchimerism in newborn tissues. *J. Pediatr.* **142**, 31–35 (2003).
13. Aluvihare, V. R., Kallikourdis, M. & Betz, A. G. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat. Immunol.* **5**, 266–71 (2004).
14. Jakobsen, T. R., Clausen, F. B., Rode, L., Dziegiel, M. H. & Tabor, A. High levels of fetal DNA are associated with increased risk of spontaneous preterm delivery. *Prenat. Diagn.* **32**, n/a-n/a (2012).
15. Mold, J. E. *et al.* Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero. *Science* **322**, 1562–5 (2008).
16. Mahmood, U. & O'Donoghue, K. Microchimeric fetal cells play a role in maternal wound healing after pregnancy. *Chimerism* **5**, 40–52 (2014).
17. Evans, P. C. *et al.* Long-term fetal microchimerism in peripheral blood mononuclear

- cell subsets in healthy women and women with scleroderma. *Blood* **93**, 2033–7 (1999).
18. O'Donoghue, K. Pregnancy and the risk of autoimmune disease: An exploration. *Chimerism* **2**, 84–5 (2011).
 19. Cirello, V. *et al.* Fetal cell microchimerism in papillary thyroid cancer: studies in peripheral blood and tissues. *Int. J. Cancer* **126**, NA-NA (2010).
 20. Rava, R. P., Srinivasan, A., Sehnert, A. J. & Bianchi, D. W. Circulating Fetal Cell-Free DNA Fractions Differ in Autosomal Aneuploidies and Monosomy X. *Clin. Chem.* **60**, 243–250 (2014).
 21. Kamper-Jørgensen, M. *et al.* Opposite effects of microchimerism on breast and colon cancer. *Eur. J. Cancer* **48**, 2227–2235 (2012).
 22. Guettier, C. *et al.* Male cell microchimerism in normal and diseased female livers from fetal life to adulthood. *Hepatology* **42**, 35–43 (2005).
 23. Yan, Z. *et al.* Male microchimerism in women without sons: Quantitative assessment and correlation with pregnancy history. *Am. J. Med.* **118**, 899–906 (2005).
 24. Zhong, J. F. & Weiner, L. P. Role of fetal stem cells in maternal tissue regeneration. *Gene Regul. Syst. Bio.* **1**, 111–5 (2007).
 25. Johnson, K. L., Zhen, D. K. & Bianchi, D. W. The use of fluorescence in situ hybridization (FISH) on paraffin-embedded tissue sections for the study of microchimerism. *Biotechniques* **29**, 1220–4 (2000).
 26. Rijnink, E. C. *et al.* Tissue microchimerism is increased during pregnancy: a human autopsy study. *Mol. Hum. Reprod.* **21**, 857–864 (2015).
 27. Mold, J. E. *et al.* Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero. *Science* **322**, 1562–5 (2008).
 28. Dutta, P. *et al.* Microchimerism is strongly correlated with tolerance to noninherited maternal antigens in mice. *Blood* **114**, (2009).
 29. Khosrotehrani, K. *et al.* Pregnancy Allows the Transfer and Differentiation of Fetal Lymphoid Progenitors into Functional T and B Cells in Mothers. *J. Immunol.* **180**, (2008).
 30. Wrenshall, L. E., Stevens, E. T., Smith, D. R. & Miller, J. D. Maternal microchimerism leads to the presence of interleukin-2 in interleukin-2 knock out mice: implications for the role of interleukin-2 in thymic function. *Cell. Immunol.* **245**, 80–90 (2007).
 31. Schorle, H., Holtschke, T., Hünig, T., Schimpl, A. & Horak, I. Development and function of T cells in mice rendered interleukin-2 deficient by gene targeting. *Nature* **352**, 621–624 (1991).
 32. Lo, Y. M. D. *et al.* Rapid Clearance of Fetal DNA from Maternal Plasma. *Am. J. Hum. Genet* **64**, 218–224 (1999).
 33. Trivers, R. L. Parent-Offspring Conflict. **14**, 249–264 (1974).
 34. Haig, D. Genetic conflicts in human pregnancy. *Q. Rev. Biol.* **68**, 495–532 (1993).

35. Boddy, A. M., Fortunato, A., Wilson Sayres, M. & Aktipis, A. Fetal microchimerism and maternal health: a review and evolutionary analysis of cooperation and conflict beyond the womb. *Bioessays* **37**, 1106–18 (2015).
36. Behjati, S. & Tarpey, P. S. What is next generation sequencing? *Arch. Dis. Child. Educ. Pract. Ed.* **98**, 236–8 (2013).
37. Sharpless, N. E. & DePinho, R. A. How stem cells age and why this makes us grow old. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 703–713 (2007).
38. Khosrotehrani, K. & Bianchi, D. W. Multi-lineage potential of fetal cells in maternal tissue: a legacy in reverse. *J. Cell Sci.* **118**, (2005).
39. Whitby, D. J. & Ferguson, M. W. J. The extracellular matrix of lip wounds in fetal, neonatal and adult mice. *Development* **112**, 651–668 (1991).
40. Wang, Y. *et al.* Fetal cells in mother rats contribute to the remodeling of liver and kidney after injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **325**, 961–967 (2004).
41. Tan, X.-W. *et al.* Fetal Microchimerism in the Maternal Mouse Brain: A Novel Population of Fetal Progenitor or Stem Cells Able to Cross the Blood-Brain Barrier? *Stem Cells* **23**, 1443–1452 (2005).
42. Zeng, X. X. *et al.* Pregnancy-Associated Progenitor Cells Differentiate and Mature into Neurons in the Maternal Brain. *Stem Cells Dev.* **19**, 1819–1830 (2010).
43. Gadi, V. K. & Nelson, J. L. Fetal Microchimerism in Women with Breast Cancer. *Cancer Res* **67**, 9035–8 (2007).
44. Dubernard, G. *et al.* Breast cancer stroma frequently recruits fetal derived cells during pregnancy. *Breast Cancer Res.* **10**, R14 (2008).
45. O'Donoghue, K. *et al.* Microchimeric fetal cells cluster at sites of tissue injury in lung decades after pregnancy. *Reprod. Biomed. Online* **16**, 382–390 (2008).
46. Kamper-Jorgensen, M., Hjalgrim, H., Andersen, A.-M. N., Gadi, V. K. & Tjonneland, A. Male microchimerism and survival among women. *Int. J. Epidemiol.* **43**, 168–173 (2014).
47. Müller, H.-G., Chiou, J.-M., Carey, J. R. & Wang, J.-L. Fertility and life span: late children enhance female longevity. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* **57**, B202-6 (2002).